

# Über den Stoffwechsel eines Paraffin verwertenden Bakterienstammes

Streschnak, Benno  
Schwartz, W.

Veröffentlicht in:  
Abhandlungen der Braunschweigischen  
Wissenschaftlichen Gesellschaft Band 7, 1955, S. 66-73



Friedr. Vieweg & Sohn, Braunschweig

# Über den Stoffwechsel eines Paraffin verwertenden Bakterienstammes

Von B. Streschnak und W. Schwartz

Vorgelegt von Herrn H. H. Inhoffen\*)

*Summary: A synthetic medium containing paraffin, especially of  $C_{14}-C_{18}$ , as a source of carbon was able to support growth and pigment-formation of strain HP/a of *Pseudomonas aeruginosa* (pyocyanea) which has been isolated from paraffin dirt of an oil well.*

*Among the pigments, pyocyanine and 2-nonyl-4-oxychinolin have been identified. Growth and pigment formation are also well supported by carbon acids up to  $C_8$  and by carbinols  $C_5-C_8$ .*

## 1. Einleitung

Über die Verwertung von Kohlenwasserstoffen als Kohlenstoff- und Energiequelle für das Wachstum von Mikroorganismen ist von verschiedenen Autoren berichtet worden, z. B. von Hessel [1], Tausson [2—11], Strawinski [12] und ZoBell [13].

Als Endprodukt des aeroben Kohlenwasserstoffabbaues konnte von allen Autoren Kohlendioxyd nachgewiesen werden. Übereinstimmend wird berichtet, daß der Quotient aus verbrauchtem Kohlenwasserstoff und entstandenem  $CO_2$  etwa 0,36 beträgt, also 80% der Kohlenstoffquelle total abgebaut werden. Die restlichen 20% werden zum Aufbau der Zellsubstanz verwendet oder in Form anderer Stoffwechselprodukte ausgeschieden, über deren Natur bisher wenig bekannt geworden ist (Tabelle 1).

Tabelle 1. Stoffwechselprodukte, die außer  $CO_2$  beim Abbau von Kohlenwasserstoffen durch Mikroorganismen sicher nachgewiesen worden sind.

Kohlenwasserstoff	Mikroorganismen	Abbauprodukte	Literatur
Acetylen	Mycobact. lacticola	Acetaldehyd	Birch-Hirschfeld [14].
Paraffinöl	Bodenbakterien	Isopropylalkohol	Haas [15]
		Glykol	
		Glycerin	
	Corynebakterien	$\beta$ -Carotin	Haas [16]
	Mycobakterien	Astacin	Haas [15]
Ceresin	nicht genannt	Acetaldehyd	Thaysen [17]
		Essigsäure	
		Milchsäure	
Cyclohexan	Ps. aeruginosa	Formaldehyd	Imelik [18]
		Ameisensäure	
		Valeriansäure	
Naphthalin	Ps. aeruginosa	o-Salicylsäure	Strawinski [12]
	Bodenbakterien	Phthalsäure	Jacobs [19]
	B. naphthalinic.	O-Salicylsäure	Walker u. Wiltshire
		1,2-Dioxy-naphthalin	[20]

\*) Der Akademie der Wissenschaften und der Literatur, Mainz, sage ich für die Förderung dieser Arbeit meinen aufrichtigen Dank.

Die Zahl der verwertbaren Kohlenwasserstoffe und der am Abbau beteiligten Mikroorganismen ist recht umfangreich und umfaßt sowohl aliphatische wie cyclische Kohlenwasserstoffe und unter den Mikroorganismen vor allem Eubakterien, einige Actinomyceten und Pilze (Tabelle 2).

Tabelle 2. Einige Beispiele für den Abbau von Kohlenwasserstoffen durch Mikroorganismen

Kohlenwasserstoff	Mikroorganismen	Literatur
Methan	<i>Methanomonas methanica</i>	<i>Söhngen</i> [21] <i>Aiyer</i> [22] <i>Kaserer</i> [23] <i>Hasemann</i> [24] <i>Bokowa</i> [35] <i>Bokowa</i> (35) <i>Tausz</i> u. <i>Donath</i> [25] <i>Imelik</i> [18] <i>Tausz</i> u. <i>Peter</i> [26] <i>Johnson</i> [27]
Aethan	<i>Mycobact. perrugosum</i>	
Propan	<i>Mycobact. rubrum</i>	
Pentan	Bact. aliphatic liquef.	
n-Heptan	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Bact. aliphatic. liquef. <i>Pseudomonas fluorescens</i>	
n-Nonan		
n-Decan		
n-Tricosan	<i>Aspergillus versicolor</i>	<i>Hopkins</i> u. <i>Chibnall</i> [28]
n-Heptacosan		
n-Triacontan		
n-Tetradecan	<i>Desulfovibrio</i>	<i>Novelli</i> u. <i>ZoBell</i> [29]
n-Eicosan		
n-Docosan		
Hartparaffin	<i>Penicillium</i> -Arten Bact. pyocyaneum <i>Mycobact. phlei</i> <i>Mycobact. album</i> <i>Mycobact. luteum</i> <i>Mycobact. rubrum</i> <i>Mycobact. lacticola</i> <i>Mycobact. hyalinum</i>	<i>Rahn</i> [30] <i>Söhngen</i> [31] <i>Söhngen</i> [31]
Benzol	Bact. benzoli Bact. hexacarbovorum marine Bakterien <i>Micromonospora</i> spez.	<i>Wagner</i> [32] <i>Störmer</i> [33] <i>ZoBell</i> [13] <i>Erikson</i> [34] <i>Wagner</i> [32] <i>Tausson</i> [5] <i>Strawinski</i> [12] <i>ZoBell</i> [13] <i>Tausson</i> [7]
Toluol und Xylol	Bact. benzoli	
Naphthalin	Bac. naphthalinicus Bodenbakterien marine Bakterien	
Phenanthren	Bac. phenanthrenicus Bac. bakiensis	
Diphenyl	Bodenbakterien	<i>Strawinski</i> [12]

## 2. Themastellung

Der aus Paraffinabsätzen einer Erdölsonde isolierte Bakterienstamm HP/a, der bis auf einige geringe Abweichungen mit *Pseudomonas aeruginosa* (Schr.) Migula (= *Ps. pyocyanea* Mig) identisch ist, zersetzt Paraffin und bildet einen blaugrünen Farbstoff.

Es sollte untersucht werden, welche Kohlenwasserstoffe verwertet werden können, wie sich der Stamm HP/a gegenüber den theoretisch als Zwischenprodukte des oxydativen Abbaues zu erwartenden Carbonsäuren und Alkoholen

verhält und welche Stoffwechselprodukte sich aus der gebrauchten Nährlösung isolieren und identifizieren lassen.

Unter den Stoffwechselprodukten haben uns besonders die Pigmente interessiert

### 3. Methodik

#### a) Zusammensetzung der Nährlösung für HP/a

$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ .....	0,7 %
$\text{K}_2\text{HPO}_4$ .....	0,15 %
$\text{MgSO}_4$ .....	0,05 %

Die Nährlösung erhielt auf 100 cm<sup>3</sup> einen Zusatz von je 0,1 cm<sup>3</sup> der Spurenelement-Lösungen A und B abgeändert nach Hoagland u. Snyder sowie von 15 Gamma Fe als  $\text{FeCl}_3$ .

Die Spurenelement-Lösungen hatten folgende Zusammensetzung:

Lösung A		Lösung B	
$\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18 \text{H}_2\text{O}$ .....	100 mg	$\text{BaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ .....	50 mg
KJ .....	50 mg	$\text{CdCl}_2 \cdot 2,5 \text{H}_2\text{O}$ .....	10 mg
KBr .....	50 mg	$\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ .....	10 mg
$\text{TiO}_2$ .....	100 mg	$\text{Rb}_2\text{SO}_4$ .....	10 mg
$\text{SnCl}_2 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ .....	50 mg	$\text{K}_2\text{CrO}_4$ .....	50 mg
$\text{LiCl} \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$ .....	50 mg	$\text{NaF}$ .....	10 mg
$\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ .....	7000 mg	$\text{PbCl}_2$ .....	10 mg
$\text{H}_3\text{BO}_3$ .....	1100 mg	$\text{HgCl}_2$ .....	1 mg
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ .....	100 mg	$\text{MoO}_3$ .....	50 mg
$\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ .....	200 mg	$\text{Na}_2\text{SeO}_4$ .....	10 mg
$\text{NiSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ .....	200 mg	$\text{SrSO}_4$ .....	50 mg
$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ .....	200 mg	$\text{H}_2\text{WO}_4$ .....	10 mg
$\text{As}_2\text{O}_3$ .....	10 mg	$\text{V}_2\text{O}_5$ .....	10 mg
$\text{H}_2\text{O}$ .....	1800 ccm	$\text{H}_2\text{O}$ .....	1800 ccm

#### b) Sterilisieren

Die Nährlösung wurde mit der abgewogenen Menge der als Kohlenstoffquelle dienenden Substanzen, soweit es sich nicht um Paraffine oder Alkohole handelte, in 1-Liter-Kulturkolben, die mit Verbandzellstoff verschlossen und mit Pergamentpapier gegen Feuchtigkeit geschützt waren, dreimal im Abstand von 24 Stunden im Dampftopf je  $\frac{1}{2}$  Stunde lang sterilisiert.

Die als C-Quelle verwendeten Paraffine und Alkohole haben wir wegen ihrer Wasserdampfflüchtigkeit nicht mit der Nährlösung zusammen sterilisiert, sondern sie getrennt im ganzen je 1 Stunde im Trockenschrank bis zur Siedetemperatur (hochsiedende Stoffe jedoch nur auf 120 °C) erhitzt und kurz vor dem Impfen mit Hilfe steriler Pipetten der Nährlösung zugefügt.

#### c) Impfen

100 ccm fassende Kölbchen wurden mit 50 ccm Nährlösung (ohne C-Quelle) gefüllt und nach dem Sterilisieren mit je 3 Ösen einer Schrägagar-Stammkultur beimpft. Nach Verteilung der Bakterien durch kräftiges, minutenlanges Schütteln, wurden mit Hilfe steriler Pipetten je 5 ccm dieser Bakterien-suspension einem Liter Kulturlösung steril hinzugefügt.

d) *Bebrütung*

Nach dem Impfen standen die Kulturkolben in Brutschränken bei 28 °C. Die Bebrütungsdauer richtete sich nach dem Grad der Farbstoffbildung und betrug mindestens 4 Tage.

e) *Farbstoffbestimmung*

Die blaugrünen Kulturlösungen wurden so lange mit Chloroform ausgeschüttelt, bis das Extraktionsmittel keinen Farbstoff mehr aufnahm. Die sich schlecht absetzenden Emulsionen wurden zentrifugiert. Den nunmehr klaren, blauen Chloroformlösungen konnte der Farbstoff mit verdünnter Salzsäure entzogen werden. Die mit Wasser auf 100 ccm aufgefüllten Farbsalzlösungen wurden kolorimetrisch mit einer 1 mg/100 ccm enthaltenden Farbstofflösung im Kolorimeter nach Dubosq verglichen.

#### 4. Wachstum und Pigmentbildung von Bakterienstamm HP/a mit verschiedenen Kohlenstoffquellen

a) *Aliphatische Kohlenwasserstoffe* (Tabelle 3)

Tabelle 3. Verwertung von aliphatischen Kohlenwasserstoffen

Kohlenwasserstoff	C <sub>n</sub>	Herkommen	Farbstoffbildung
n-Hexan .....	6	Erdöldestillat	keine
n-Heptan .....	7	synthetisch	keine
n-Octan .....	8	Erdöldestillat	keine
n-Nonan .....	9	Erdöldestillat	keine
n-Decan .....	10	Erdöldestillat ....	keine
n-Undecan .....	11	Erdöldestillat	keine
n-Dodecan .....	12	Erdöldestillat	Spuren
n-Tridecan .....	13	Erdöldestillat	mittel
n-Tetradecan .....	14	synthetisch	kräftig
n-Pentadecan .....	15	Erdöldestillat	kräftig
n-Hexadecan .....	16	Erdöldestillat	kräftig
n-Hexadecan .....	16	synthetisch	kräftig
n-Heptadecan .....	17	Erdöldestillat	kräftig
n-Octadecan .....	18	synthetisch	kräftig
n-Dotriaconten .....	32	synthetisch	Spuren
n-Hexatriacontan .....	36	synthetisch	keine
Hartparaffin .....		Erdöl	Spuren

b) *Cyclische Kohlenwasserstoffe*

Bei Verwendung folgender Kohlenwasserstoffe kam es weder zum Wachstum noch zur Farbstoffbildung:

Benzol, Toluol, Äthylbenzol, Propylbenzol, Naphthalin, Tetralin, Dekalin, Cyclohexan, Anthracen, Phenanthren, Pyren.

c) *Carbonsäuren*

In 5 Versuchsreihen haben wir nicht die freien Carbonsäuren, sondern ihre Ammoniumsalze untersucht, da das Wachstumsoptimum für HP/a bei pH 7,4 liegt. Die Konzentration der getesteten Säuren betrug 0,1%, bezogen auf den Gesamtkohlenstoffgehalt der Carbonsäuren (Tabelle 4).

Tabelle 4. Verwertung von Carbonsäuren (Mittel aus 5 Versuchsreihen)

Carbonsäure	C <sub>n</sub>	Farbstoff- bildung	Carbonsäure	C <sub>n</sub>	Farbstoff- bildung
Essigsäure .....	2	kräftig	Laurinsäure .....	12	schwach
Propionsäure .....	3	schwach	Myristinsäure .....	14	Spuren
Buttersäure .....	4	mittel	Palmitinsäure .....	16	Spuren
Valeriansäure .....	5	mittel	Stearinsäure .....	18	Spuren
Capronsäure .....	6	kräftig	Oxalsäure .....	2	keine
Oenanthsäure .....	7	mittel	Malonsäure .....	3	mittel
Caprylsäure .....	8	kräftig	Bernsteinsäure .....	4	kräftig
Pelargonsäure .....	9	mittel	Adipinsäure .....	6	kräftig
Caprinsäure .....	10	mittel	Benzoesäure .....		kräftig
Undecylsäure .....	11	schwach			

d) *Alkohole*

In einigen Vorkulturen mit Alkoholen haben wir festgestellt, daß nur vorübergehend blauer Farbstoff entsteht, der nach einigen Tagen in rote Farbsalze organischer Säuren überführt wurde. Um diese Säurebildung zu vermeiden, wurde der Kulturlösung festes Calciumcarbonat zugesetzt. Wir haben Alkohole mit unverzweigter (Tabelle 5) und verzweigter Kette (Tabelle 6) untersucht.

Tabelle 5. Verwertung von n-Carbinolen (Mittel aus 5 Versuchsreihen)

Alkohol	C <sub>n</sub>	Farbstoff- bildung	Alkohol	C <sub>n</sub>	Farbstoff- bildung
Äthyl- .....	2	mittel	Nonanol .....	9	mittel
Propyl- .....	3	mittel	Decanol .....	10	mittel
Butyl- .....	4	mittel	Undecanol .....	11	schwach
Amyl- .....	5	kräftig	Dodecanol .....	12	schwach
Hexanol .....	6	kräftig	Myristin- .....	14	schwach
Heptanol .....	7	kräftig	Palmitin- .....	16	schwach
Octanol .....	8	kräftig	Stearin- .....	18	Spuren

Um den Einfluß von Kettenverzweigungen auf das Wachstum und die Pigmentbildung kennenzulernen, wurden auch einige Alkohole mit verzweigter Kette getestet (Tabelle 6).

Tabelle 6.

Verwertung von Alkoholen mit verzweigter Kette (Mittel aus 5 Versuchsreihen)

Alkohol	Art	C <sub>n</sub>	Farbstoffbildung
Propylalkohol (iso) .....	sekundär	3	keine
Butylalkohol (iso) .....	primär	4	mittel
Butylalkohol .....	tertiär	4	keine
Amylalkohol .....	tertiär	5	keine

## 5. Ergebnisse der Testversuche

Paraffine und Alkohole werden durch *Pseudomonas aeruginosa* Stamm HP/a unter Farbstoffbildung abgebaut. Als Zwischenprodukte treten Säuren auf, was durch den Farbumschlag von blau nach rot sichtbar wird. Im gleichen Sinn ist die teilweise Verwertung von Alkoholen mit verzweigter Kette zu erklären, da nur primäre Alkohole mit verzweigter Kette oxydativ zu Carbonsäuren abgebaut werden können. Sekundäre und tertiäre Alkohole werden daher nicht angegriffen.

Eine Oxydation der Paraffine am endständigen oder  $\beta$ -C-Atom zu den entsprechenden Carbonsäuren findet nicht statt, da die den gut verwerteten

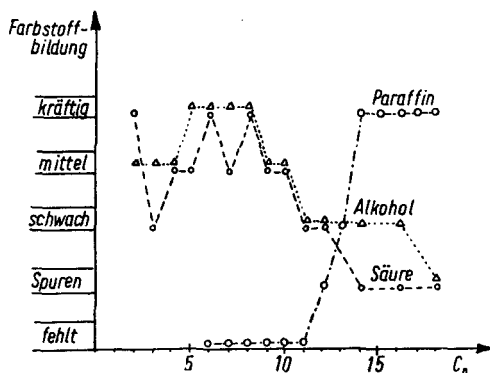


Abb. 1. Eignung von Paraffinen, Monocarbonsäuren und Alkoholen zur Farbstoffbildung in Abhängigkeit zur Zahl ihrer C-Atome

Paraffinen entsprechenden Carbonsäuren höchstens spurenweise angegriffen werden.

Bisher hat sich ergeben, daß die Verwertbarkeit der Paraffine erst bei  $C_{12}$  einsetzt und bei  $C_{14}$  bis  $C_{18}$  optimal ist. Bei Carbonsäuren liegt dagegen der optimale Bereich bis etwa  $C_8$  aufwärts. Bei Alkoholen wird der Bereich  $C_5$ – $C_8$  bevorzugt (Abb. 1).

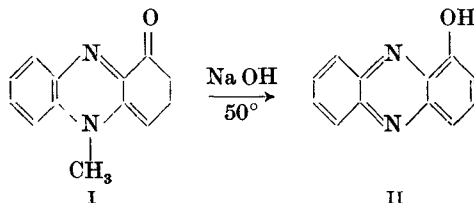
## 6. Stoffwechselprodukte

### a) Konstitution des blauen Farbstoffs

Zur Isolierung des Farbstoffs haben wir 15 Liter Nährlösung mit Hartparaffin als C-Quelle, nachdem sich HP/a während 6 Wochen darin entwickelt hatte, mit Chloroform ausgeschüttelt. Nach Zentrifugieren der blauen Emulsion wurde im Scheidetrichter getrennt und der Farbstoff mit wenigen ccm n/10 HCl extrahiert. Die bis zum Farbumschlag mit NaOH versetzte Lösung wurde dreimal mit Chloroform ausgeschüttelt. Nach dem Trocknen der Chloroformlösung mit Natriumsulfat entfernten wir das Lösungsmittel unter vermindertem Druck bei  $35^\circ\text{C}$ . Die verbleibenden 12 mg Farbstoff wurden dreimal aus warmem Wasser umkristallisiert. Die Ausbeute an langen blauen Nadeln betrug 2,4 mg.

Das UV-Spektrum des Farbstoffes war identisch mit dem des Pyocyanins (I), das von *Wrede* und *Strack* [36] aus Kulturen von *Bacterium pyocyaneum* (*Pseudomonas pyocyanea*) isoliert und in seiner Struktur aufgeklärt worden ist.

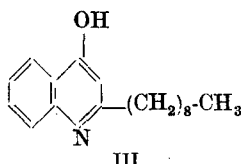
Das aus den Kulturen von HP/a gewonnene Pyocyanin (I) haben wir nach *Wrede* und *Strack* [36] mit verdünnter NaOH abgebaut, wobei die Farbe von blau nach weinrot umschlug. Nach Ansäuern der Lösung extrahierten wir die nunmehr gelbe Lösung mit Äther und verglichen das UV-Spektrum mit dem von synthetischem Oxyphenazin (II) (dargestellt nach *Wrede* und *Strack* [36]). Beide Spektren waren identisch.



#### b) Konstitution einer fluoreszierenden Substanz

Das am Boden der Kulturgefäße sich absetzende Calciumcarbonat war stark gelb gefärbt und fluoreszierte bei Bestrahlung mit UV-Licht kräftig gelbgrün. Der fluoreszierende Stoff ließ sich mit Lösungsmitteln nicht eluieren. Erst nach Zersetzung des Calciumcarbonats mit verdünnter Schwefelsäure konnte mit Äther (bei  $p_H$  7) eine Substanz isoliert werden, deren UV-Spektrum in der Lage der Absorptionsmaxima sowie der Höhe der Extinktionen mit einer antibiotisch wirksamen Substanz identisch war, die *Hays* und Mitarbeiter [3] aus Kulturen einer pyocyaninfreien Mutante von *Pseudomonas aeruginosa* isoliert haben.

Die Konstitutionsbestimmung dieser Verbindung ist *Wells* [38] 1952 gelungen; es handelt sich um 2-Nonyl-4-Oxychinolin (III). Außer dieser äther-



löslichen Verbindung enthalten die Kulturlösungen von HP/a noch weitere stark fluoreszierende Substanzen, die extrem wasserlöslich sind und sich mit organischen Lösungsmitteln nicht extrahieren lassen, an deren Isolierung gearbeitet wird.

Die Untersuchungen wurden mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft ausgeführt und werden fortgesetzt.

### 7. Zusammenfassung

Ein zu *Pseudomonas aeruginosa* (Schr.) Migula (= *Ps. pyocyanea* Mig.) gehörender Bakterienstamm HP/a, der aus den Paraffinabsätzen einer Erdölsonde isoliert worden war, bildete in einer synthetischen Nährlösung mit



Paraffin als einziger Kohlenstoffquelle Pyrocyanin und einige andere zum Teil fluoreszierende Substanzen, unter denen bis jetzt 2-Nonyl-4-Oxychinolin spektroskopisch identifiziert werden konnte.

Paraffine mit der Kettenlänge  $C_{14}$ — $C_{18}$  haben die beste Ausbeute an Pyrocyanin ergeben.

Niedere Carbonsäuren bis etwa  $C_8$  aufwärts, besonders solche mit gradzahligen C-Ketten, werden ebenfalls unter Farbstoffbildung verwertet. Bei Alkoholen wird der Bereich  $C_5$  bis  $C_8$  bevorzugt.

### Literatur

- [1] F. A. Hessel, *Mat. grasses* 16 (1924), S. 6936.
- [2] W. O. Tausson, *Biochem. Z.* 155 (1925), S. 356.
- [3] W. O. Tausson, *Botan. zhur. SSR.* 9 (1925), S. 356.
- [4] W. O. Tausson, *Planta* 4 (1927), S. 214.
- [5] W. O. Tausson, *Neftyanoe Khoz.* 14 (1928), S. 220.
- [6] T. A. Tausson, *Mikrobiologiya* 8 (1939), S. 828.
- [7] W. O. Tausson, *Planta* 5 (1928), S. 239.
- [8] W. O. Tausson, *Planta* 7 (1929), S. 735.
- [9] W. O. Tausson, *Ark. Biol. Nauk.* 43 (1936), S. 267.
- [10] W. O. Tausson, *Mikrobiologiya* 1 (1932), S. 229.
- [11] W. O. Tausson, *Mikrobiologiya* 3 (1934), S. 79.
- [12] R. J. Strawinski, *J. Bact.* 45 (1943), S. 16.
- [13] C. E. ZcBell, *Bull. Am. Assoc. Petrol. Geol.* 27 (1943), S. 1175.
- [14] L. Birch-Hirschfeld, *Centr. Bakt. Parasitenk.* II 86 (1932), S. 113.
- [15] H. F. Haas, *Dissertation, Kansas State College, Manhattan* (1942).
- [16] H. F. Haas, *Science* 95 (1942), S. 631.
- [17] A. C. Thaysen, *Proc. Third Intern. Congr. Microbiol.* (1942).
- [18] B. Imelik, *C. R.* 227 (1948), S. 2082.
- [19] S. E. Jacobs, *Ann. Applied Biol.* 18 (1931), S. 98.
- [20] N. Walker u. G. H. Wiltshire, *J. Gen. Microbiol.* 8 (1953), S. 273.
- [21] N. L. Söhngen, *Zentr. Bakt. Paras. Infekt.* II 15 (1906), S. 513.
- [22] P. A. S. Aiyer, *Mem. Dept. Agr. India, Chem. Ser.* 5 (1920), S. 173.
- [23] H. Kaserer, *Zentr. Bakt. Parasit. Infekt.* II 15 (1906), S. 573.
- [24] W. Hasemann, *Biochem. Z.* 134 (1927), S. 147.
- [25] J. Tausz u. P. Donath, *Z. Physiol. Ch.* 15 (1919), S. 553.
- [26] J. Tausz u. M. Peter, *Zentr. Bakt. Parasit. Infekt.* II 49 (1919), S. 497.
- [27] F. H. Johnson, *Cellular Comp. Physiol.* 19 (1942), S. 163.
- [28] S. J. Hopkins, *Biochem. J.* 26 (1932), S. 133.
- [29] G. D. Novelli u. C. E. ZcBell, *J. Bact.* 47 (1944), S. 447.
- [30] O. Rahn, *Zentr. Bakt. Parasit. Infekt.* II 16 (1906), S. 382.
- [31] N. L. Söhngen, *Zentr. Bakt. Parasit. Infekt.* II 37 (1913), S. 595.
- [32] R. Wagner, *Z. Gärungsphysiol.* 4 (1914), S. 289.
- [33] K. Störmer, *Zentr. Bakt. Parasit. Infekt.* II 20 (1908), S. 282.
- [34] D. Ericson, *J. Bact.* 41 (1941), S. 277.
- [35] J. N. Bokowa, *Mikrobiologiya* 23 (1954), S. 15.
- [36] F. Wrede u. E. Strack, *B.* 62 (1929), S. 58.
- [37] E. E. Hays u. Mitarb., *J. Biol. Chem.* 159 (1945), S. 725.
- [38] I. C. Wells, *J. Biol. Chem.* 196 (1952), S. 331.